

## Trabajo Fin de Grado

Espectroscopía ultravioleta como técnica para determinar entalpías de cambio de fase de moléculas con interés farmacéutico y alimentario: timol, vainillina y ácido trans-cinámico.

Álvaro Marcé Erazo  
Grado en Farmacia  
Curso 2020/2021

Director: Roberto Martínez Pérez de Mendiola  
Departamento de Química Física



## ÍNDICE

RESUMEN .....	1
1 INTRODUCCIÓN .....	2
2 OBJETIVOS .....	4
3 DESARROLLO .....	4
3.1 PARTE TEÓRICA .....	4
3.2 PARTE EXPERIMENTAL .....	7
3.2.1 Materiales e instrumentación .....	7
3.2.2 Método .....	7
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	13
3.3.1 Timol .....	13
3.3.2. Vainillina .....	15
3.3.3 Ácido trans-cinámico .....	17
3.3.4 Discusión .....	19
4 CONCLUSIONES .....	20
5 BIBLIOGRAFÍA .....	21



## RESUMEN

En este trabajo se presenta la espectroscopía de absorción ultravioleta como técnica alternativa para la determinación de entalpías de cambio de fase. La absorción de radiación ultravioleta es considerada una técnica imprescindible en el estudio de la materia, económicamente accesible y de uso cotidiano. Sin embargo, apenas se han encontrado estudios enfocados a la determinación de entalpías de cambios de fase. Su aplicación en este campo resulta bastante novedosa.

Se ha desarrollado un método basado en la proporcionalidad existente entre la presión de vapor del gas, en equilibrio con su fase condensada, y la absorbancia medida en la región ultravioleta.

La validez del método se ha mostrado en la determinación de la entalpía de sublimación del fenol y en la entalpía de vaporización del benceno. Para el primero se ha obtenido un valor de  $66,6 \pm 2,0$  kJ/mol y para el segundo de  $29,8 \pm 1,1$  kJ/mol, ambos en excelente acuerdo con la abundante bibliografía.

La puesta a punto del método ha servido para la determinación de las entalpías de sublimación de tres moléculas de gran interés en las ciencias farmacéuticas y de la alimentación: timol, vainillina y ácido trans-cinámico. Los resultados obtenidos han sido  $95,5 \pm 2,2$  kJ/mol,  $86,4 \pm 2,0$  kJ/mol y  $51,7 \pm 1,3$  kJ/mol respectivamente. La bibliografía existente para estas moléculas es escasa y en el caso del ácido trans-cinámico discrepa con el resultado obtenido en este trabajo.

## 1 INTRODUCCIÓN

El conocimiento de las entalpías de sublimación y vaporización tiene gran importancia en diversas áreas de la ciencia en general y de las ciencias de la vida en particular. La evaluación de la migración de las moléculas en el ambiente [1,2] y el estudio de los polimorfismos y empaquetamientos moleculares [3], que están estrechamente relacionados con la solubilidad [4] y purificación de los fármacos [5], son algunos ejemplos en los que resulta indispensable disponer de valores precisos de estas magnitudes termodinámicas [6,7].

Las técnicas clásicas más utilizadas para determinar entalpías de sublimación y vaporización están basadas en el empleo de métodos calorimétricos directos sobre la fase condensada o en la realización de medidas indirectas de la variación de la presión de vapor en función de la temperatura [6,7,8]. En estas medidas indirectas, las presiones de vapor se determinan normalmente utilizando métodos complejos y/o muy específicos, como el método de efusión de Knudsen [9], la cromatografía de gases [10] o el isoteniscoPIO [11].

En este trabajo se presenta la espectroscopía ultravioleta (UV) como técnica alternativa a las mencionadas clásicas. La absorción de radiación UV es considerada una herramienta imprescindible y de uso habitual en cualquier laboratorio por sus variadas aplicaciones [12]. Utilizando la espectroscopía UV se han medido, en primer lugar, las entalpías de vaporización y sublimación del benceno y del fenol respectivamente, a fin de establecer y evaluar la validez del método. Posteriormente, se han determinado las entalpías de sublimación de moléculas de origen vegetal que presentan interés para las industrias farmacéutica y alimentaria: timol, vainillina y ácido trans-cinámico. Sobre estas moléculas apenas se han encontrado referencias bibliográficas.

El timol es el monoterpeno mayoritario en los aceites esenciales de las plantas lamiáceas [13]. Posee gran importancia para la industria farmacéutica por sus propiedades antimicrobianas, concretamente antibacteriana y antifúngica [14], y se utiliza en pastas dentífricas (Euthymol®), antisépticos orales (Listerine®), ungüentos descongestionantes (Vicks Vaporub®) y formas farmacéuticas orales sólidas (Valda®) [15]. Varios estudios también le atribuyen actividad antioxidante, antiinflamatoria, anestésica local, anticonceptiva y cicatrizante [13]. Además, el timol es utilizado en la industria alimentaria por sus propiedades saborizantes y conservantes [13].

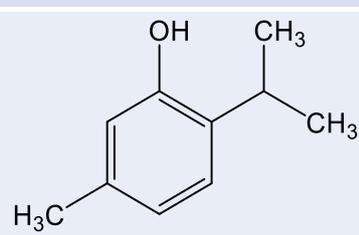
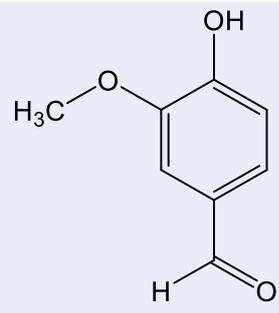
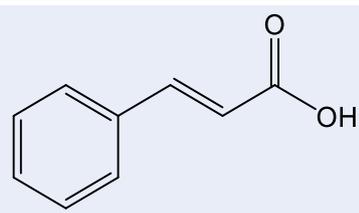
La vainillina, vanillina o vanilina, es un compuesto fenólico y el componente principal de uno de los sabores más empleados por la industria alimentaria: la vainilla. Está presente en alimentos con este sabor, pero también en sabores a frutas, chocolate o caramelo. También es utilizado como potenciador y enmascarador de sabores y, al igual que algunos de sus

derivados, como conservante por sus propiedades antibacterianas. Por otro lado, las reacciones de síntesis de la vainillina son de gran interés, ya que el 90% de la demanda mundial de este compuesto es cubierta por vainillina “artificial”, pues la que se puede obtener de manera natural no cubre la demanda. Además de en la industria alimentaria, aunque en menor medida, la vainillina también es relevante en la industria farmacéutica por sus propiedades antimicrobianas, antioxidantes, anticancerígenas y antisépticas [16].

Finalmente, el ácido trans-cinámico, presente en la canela, es un ácido graso aromático de origen natural que desempeña un papel fundamental en el crecimiento y desarrollo vegetal [17,18]. Es una molécula empleada en numerosas síntesis de compuestos orgánicos y de cuyos derivados se ha descubierto potencial actividad farmacológica citotóxica [19], antitumoral [20], antibacteriana, antiviral y antifúngica [18], inhibidora de lipooxigenasas y antiproteolítica [21], además de su capacidad de formar polímeros [17]. Para su uso comercial generalmente se sintetiza a partir de benzaldehído mediante la reacción de Perkin [22].

La estructura de estas tres moléculas y algunas de las propiedades fisicoquímicas más relevantes para este trabajo se recogen en la **Tabla 1**.

**Tabla 1.** Estructuras y propiedades fisicoquímicas del timol, vainillina y ácido trans-cinámico.

Estructura	Nombre	Propiedades fisicoquímicas
	<p>Timol</p> <p><i>2-isopropil-5-metilfenol</i></p>	<p>Punto de fusión: 49,6 °C [23]</p> <p>Presión de vapor: 1,6 · 10<sup>-2</sup> mmHg a 25 °C [24]</p>
	<p>Vainillina</p> <p><i>4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído</i></p>	<p>Punto de fusión: 81-83 °C [25]</p> <p>Presión de vapor: 1,18 · 10<sup>-4</sup> mmHg a 25 °C [26]</p>
	<p>Ácido trans-cinámico</p> <p><i>ácido (E)-3-fenil-2-propenoico</i></p>	<p>Punto de fusión: 133 °C [27]</p> <p>Presión de vapor: 3,21 · 10<sup>-5</sup> mmHg a 25 °C [27]</p>

## 2 OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo se exponen a continuación en el orden en el que se han afrontado.

Desarrollar un método para determinar entalpías de cambio de fase (sólido-gas o líquido-gas) utilizando la espectroscopía UV.

La utilización de la espectroscopía UV en la determinación de entalpías de cambio de fase apenas ha sido desarrollada y llevada a la práctica. Un objetivo principal de este trabajo ha sido la redacción de un método que pueda ser aplicado a cualquier molécula que presente absorción en la región UV cercana del espectro.

Determinar la entalpía de vaporización del benceno y la entalpía de sublimación del fenol.

Debido a la extensa bibliografía disponible, el benceno y el fenol son moléculas adecuadas para las primeras determinaciones.

Evaluar la validez del método para determinar entalpías de vaporización y sublimación.

Se evaluará la validez del método comparando los resultados obtenidos para el benceno y el fenol con los datos recogidos en la bibliografía.

Determinar la entalpía de sublimación del timol, de la vainillina y del ácido trans-cinámico por espectroscopía UV.

El objetivo principal de este trabajo es la determinación de las entalpías de sublimación del timol, de la vainillina y del ácido trans-cinámico. Se trata de moléculas de alto interés en las ciencias farmacéuticas y de la alimentación. Sin embargo, apenas se han encontrado referencias bibliográficas sobre las energías necesarias para que se den sus cambios de fase.

## 3 DESARROLLO

### 3.1 PARTE TEÓRICA

La ecuación de Clausius-Clapeyron (1) relaciona de manera lineal el inverso de la temperatura ( $T$ ) con el logaritmo neperiano de la presión de vapor ( $P$ ) para una sustancia [28].

$$\ln P = -\frac{\Delta H}{R} \cdot \frac{1}{T} + C \quad (1)$$

La pendiente que relaciona ambas magnitudes se corresponde con la entalpía de cambio de fase a gas ( $\Delta H$ ) para esa sustancia, dividida entre la constante de los gases ( $R$ ). Al escribirla de esta forma aparece una constante de integración ( $C$ ) como ordenada en el origen. La ecuación anterior se deduce de la ecuación de Clapeyron (2), válida para cambios infinitesimales en sistemas en equilibrio termodinámico, donde  $\Delta V$  es el cambio en el volumen del compuesto al cambiar de fase.

$$\frac{dP}{dT} = \frac{\Delta H}{T\Delta V} \quad (2)$$

En los cambios de fase sólido  $\rightarrow$  gas o líquido  $\rightarrow$  gas, el volumen de la fase no gaseosa puede considerarse despreciable respecto al volumen de gas ( $\Delta V = V_g - V_{s,l} \approx V_g$ ), por lo que teniendo en cuenta la ley de los gases ideales (3) para el vapor y sustituyendo (3) en (2) se obtiene la ecuación de Clausius-Clapeyron.

$$PV = nRT \quad (3)$$

$$dP = \frac{\Delta H \cdot P}{nRT} \cdot \frac{dT}{T} ; \int \frac{dP}{P} = \frac{\Delta H}{R} \int \frac{dT}{T^2} ; \ln P = -\frac{\Delta H}{R} \cdot \frac{1}{T} + C$$

Por lo tanto, una representación gráfica de  $\ln P$  frente a  $1/T$  permite determinar  $\Delta H$ .

Para determinar las entalpías de cambio de fase a vapor por espectroscopía, se considera que los vapores tienen un comportamiento ideal. La presión entonces puede expresarse en función del número de moles por unidad de volumen ( $N$ ) (4).

$$P = NRT \quad (4)$$

La espectroscopía da información sobre el número de moléculas presentes en el vapor a través de la medida de la absorbancia ( $A$ ). Ambos parámetros se relacionan en la ley de Lambert-Beer (5).

$$A(\lambda) = \sigma(\lambda) N l \quad (5)$$

Cuando se escribe de esta forma (5),  $\sigma$  es la absorbancia de un mol de gas a una determinada longitud de onda ( $\lambda$ ) y  $N$ , como se ha mencionado, los moles de gas por unidad de volumen.

El camino óptico a través del cual se absorbe radiación, expresado en unidades de longitud, se representa por  $l$ . Despejando  $N$  de la ecuación (5) y sustituyéndola en la ecuación (4) se obtiene la ecuación (6).

$$P = \frac{A(\lambda)}{\sigma(\lambda)l} RT \quad (6)$$

Finalmente, sustituyendo la ecuación (6) en la ecuación de Clausius-Clapeyron (1), se obtiene la ecuación (7).

$$\ln[A(\lambda) \cdot T] = -\frac{\Delta H}{R} \cdot \frac{1}{T} + \ln \frac{\sigma(\lambda)l}{R} + C \quad (7)$$

Sabiendo que  $\sigma$ ,  $l$  y  $R$  son constantes para una longitud de onda fija, pueden agruparse, junto con  $C$ , en una nueva constante ( $D$ ), cuyo valor no es relevante para la determinación de entalpías (8).

$$\ln[A(\lambda) \cdot T] = -\frac{\Delta H}{R} \cdot \frac{1}{T} + D \quad (8)$$

En consecuencia, una representación gráfica de  $\ln[A(\lambda) \cdot T]$  frente a  $1/T$  debería dar una línea recta de cuya pendiente se deduce  $\Delta H$ , y la ordenada en el origen será  $D$ .

La absorción de las moléculas aromáticas se caracteriza por presentar bandas intensas correspondientes a transiciones de electrones del tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$  (de  $\pi$  enlazante a  $\pi$  antienlazante). Además, a menudo, estas bandas se encuentran en regiones accesibles del espectro (ultravioleta cercano). El benceno presenta tres picos de absorción en la región UV y el menos energético de ellos, llamado "banda B", se encuentra a una longitud de onda de 256 nm [29]. Esta ha sido la banda seleccionada en este estudio, tanto para el benceno como para las demás moléculas, ya que todas ellas presentan un anillo bencénico en su estructura cuyo máximo es desplazado por los distintos sustituyentes. Se eligió esta banda porque es la más cercana a la región del visible y hay menos interferencias que en otras longitudes de onda más energéticas. Algunas de las moléculas estudiadas poseen átomos de oxígeno, cuyos electrones tipo  $n$  no enlazantes también presentan absorciones en la misma región. Sin embargo, estas bandas de absorción son en general menos intensas que las  $\pi \rightarrow \pi^*$  y se encuentran ocultas bajo las estudiadas en este trabajo.

## **3.2 PARTE EXPERIMENTAL**

### **3.2.1 Materiales e instrumentación**

Los compuestos utilizados provenían de muestras comerciales de purzas iguales o superiores al 99,5 %, a excepción del ácido trans-cinámico, cuya pureza inicial era de 97%. Para mejorar su pureza fue sublimado, comprobándose que tenía un punto de fusión entre 133-135°C, en buen acuerdo con la bibliografía [27].

El espectrofotómetro UV-VIS utilizado es un Shimazu UVmini-1240, que permite registros en el rango de longitudes de onda 190-1100 nm, con una resolución de 1 nm. La visualización de la longitud de onda puede variarse entre 0,1 y 2,0 nm, en este trabajo se han utilizado 0,5 nm. El detector es un fotodiodo de silicio.

La cubeta fue termostatizada por un termostato J.P Selecta Ultraterm que, por medio de su circulación exterior, permite termostatar instrumentación hasta 200°C con una resolución de 0,1°C y una estabilidad de  $\pm 0,05^\circ\text{C}$ . Sin embargo, debido a la caída de temperatura existente entre el baño termostatizado y el portacubetas del espectrofotómetro, ha sido necesario realizar un calibrado previo de la temperatura generada en la cubeta para cada temperatura seleccionada en el termostato.

El calibrado de la temperatura de la cubeta se realizó con un termómetro Hanna Checktemp 1, que garantiza un error máximo de 0,2°C para temperaturas entre -30 y 120°C.

La cubeta utilizada es una cubeta de cuarzo SUPRASIL de Hellma, modelo 110-10-40, que permite recoger espectros de absorción en la región comprendida entre 200 y 2.500 nm. Esta cubeta tiene un paso óptico de 1,25 cm totales y 1,0 cm de paso interior. El contenido de la cubeta puede aislarse del exterior colocando un tapón de teflón, de esta manera permite alcanzar el equilibrio entre el vapor y la fase condensada.

### **3.2.2 Método**

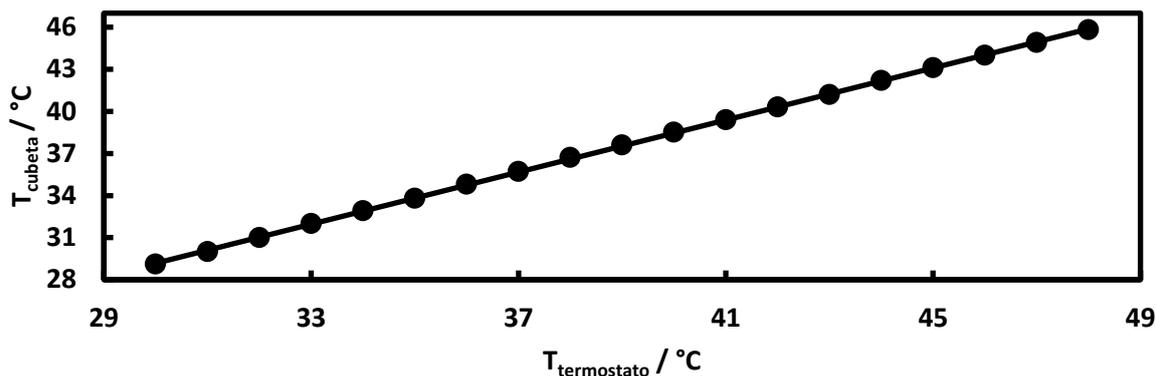
#### **Calibrado de la temperatura de la cubeta.**

El termómetro se introdujo en la cubeta y ésta se cubrió con papel de aluminio, simulando el aislamiento térmico del tapón de teflón. Las demás condiciones fueron las mismas que las utilizadas para las medidas espectrofotométricas.

Se midió la temperatura en la cubeta ajustando valores enteros de grado Celsius en el termostato, comenzando por una temperatura inferior y aumentando esta un grado por medida. Por cada variación de la temperatura fijada en el termostato, se esperó 1 minuto una

vez estabilizada para observar el valor proporcionado por el termómetro, que también debía permanecer estable durante al menos 1 minuto para ser aceptado.

Los resultados obtenidos se ajustaron bien a rectas. Estas representan la variación de temperatura en el interior de la cubeta ( $T_{cubeta}$  o  $T_c$ ) frente a la variación en el termostato ( $T_{termostato}$  o  $T_t$ ). Esto se ilustra a modo de ejemplo en la [Figura 1](#), donde se muestra el resultado obtenido para el calibrado en el rango de temperaturas de 30 a 48°C.



**Figura 1.** Recta de calibrado de temperaturas en el rango 30-48°C.

Se utilizaron ajustes específicos para cada intervalo de temperaturas utilizado en el estudio de las moléculas, es decir, se ajustó tan solo el intervalo de temperaturas utilizado en la medida de absorbancias de cada molécula. En la [Tabla 2](#) se muestran esos ajustes.

**Tabla 2.** Rectas de calibrado de la temperatura en la cubeta.

$T_{termostato} (^\circ C)$	Ecuación ( $T_c$ en $^\circ C$ )	$R^{2*}$	Molécula
26-33	$T_c = 0,9488 \cdot T_t + 0,6476$	0,999	Fenol
30-48	$T_c = 0,9279 \cdot T_t + 1,3384$	0,999	Benceno
40-46	$T_c = 0,9214 \cdot T_t + 1,6214$	0,999	Timol
62-75	$T_c = 0,9459 \cdot T_t + 0,0749$	0,999	Vainillina
80-95	$T_c = 0,9441 \cdot T_t - 0,8728$	0,999	Ácido trans-cinámico

\*coeficiente de determinación

### Limpieza de la cubeta.

En el tiempo entre medidas, la cubeta se sumergió en ácido nítrico diluido para eliminar por oxidación cualquier resto de materia orgánica. Antes de cada medida, se aclaró con agua destilada y se lavó: primero con metanol para arrastrar el agua y después con acetona, que se evaporó mediante aire caliente. Para finalizar, se pasó un papel no abrasivo por el exterior y se observó a contraluz que no hubiera ninguna impureza visible.

### **Medidas espectrofotométricas.**

Se colocaron en la cubeta unos pocos miligramos de compuesto, con precaución para que la fase condensada quedara en su totalidad en el fondo y de forma que el haz de luz del espectrofotómetro solo atravesara la fase gaseosa. Se esperaron 5 minutos antes de colocar el tapón de la cubeta con la tapa del espectrofotómetro abierta. Esto permite calentar la cubeta sin que soporte un aumento de presión y arrastrar con el gas del propio compuesto parte del aire presente en el interior. Tras un mínimo de 20 minutos, se realizó un primer espectro para determinar la longitud de onda del máximo, comprobando que el valor de la absorbancia era suficientemente elevado a esa temperatura. A continuación, se midió la absorbancia a la longitud de onda del máximo. Las medidas se repitieron en orden creciente de temperaturas a partir de la inicial. Se midieron absorbancias a 5-7 temperaturas diferentes con una diferencia entre ellas lo suficientemente alta para que el aumento de la absorbancia fuera significativo. Estas temperaturas no debían ser cercanas a los puntos de cambio de fase de la molécula. Una vez finalizadas todas las medidas, se comprobó la presencia de restos de la fase condensada en el fondo de la cubeta, lo que garantizó que en todas las determinaciones existía un buen equilibrio líquido-gas o sólido gas. También se comprobó que no existieran condensaciones en las paredes de la cubeta.

Se realizaron tres ensayos por cada molécula, calculándose la media y la desviación estándar. Los blancos se realizaron con la cubeta vacía y a la temperatura de la primera determinación. Haciendo un espectro del propio blanco se comprobó que no hubiera errores en la línea base, aceptándose esta cuando las oscilaciones se situaban en  $\pm 0,001$  sobre la línea de absorción 0. En caso contrario, se procedía a limpiar de nuevo la cubeta siguiendo el procedimiento descrito anteriormente.

### **Validación del método: Entalpía de vaporización del benceno y entalpía de sublimación del fenol.**

El benceno y el fenol son moléculas ampliamente estudiadas y se dispone de una extensa bibliografía en referencia a sus propiedades fisicoquímicas, entre la que se incluyen los valores de las entalpías de cambio de fase [30,31].

#### Benceno.

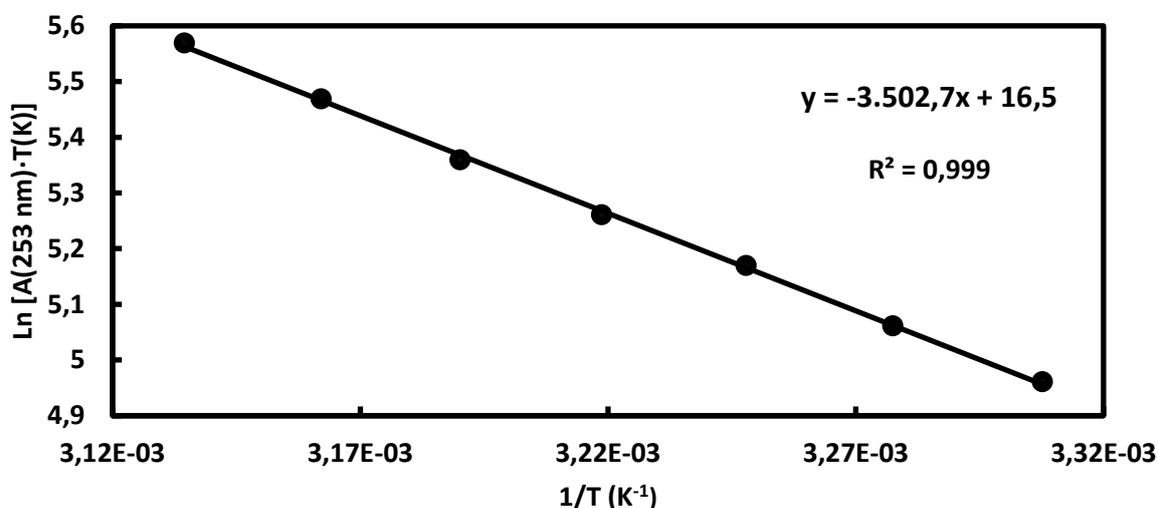
Medir la entalpía de vaporización del benceno permitió evaluar la utilidad del método para determinar entalpías de vaporización.

Las mediciones se realizaron siguiendo el método descrito. En la [Tabla 3](#) se muestra la transformación de los datos proporcionados por el espectrofotómetro y el termostato en el primer ensayo realizado sobre el benceno.

**Tabla 3.** Datos del primer ensayo realizado sobre el benceno.

$A_{253\text{ nm}}$	$T_{\text{termostato}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{cubeta}} (\text{K})$	$\text{Ln}(A \cdot T)$	$1/T \cdot 10^3 (\text{K}^{-1})$
0,472	30	302,33	4,96	3,308
0,517	33	305,11	5,06	3,278
0,571	36	307,89	5,17	3,248
0,620	39	310,68	5,26	3,219
0,678	42	313,46	5,36	3,190
0,750	45	316,24	5,47	3,162
0,822	48	319,03	5,57	3,135

Mediante la ecuación de la [Tabla 2](#) correspondiente a este rango de temperaturas, se obtuvo la temperatura en la cubeta a partir de la temperatura del termostato. Con los valores de la absorbancia a 253 nm y de la temperatura en la cubeta en grados Kelvin, se calculó el logaritmo neperiano del producto de la absorbancia por la temperatura y el inverso de la temperatura, cuyos resultados recoge la [Tabla 3](#). Con ellos se realizó una representación de la ecuación de Clausius-Clapeyron adaptada ([Ecuación 8](#)). El resultado se muestra en la [Figura 2](#) junto a la recta obtenida mediante regresión lineal de las medidas experimentales.

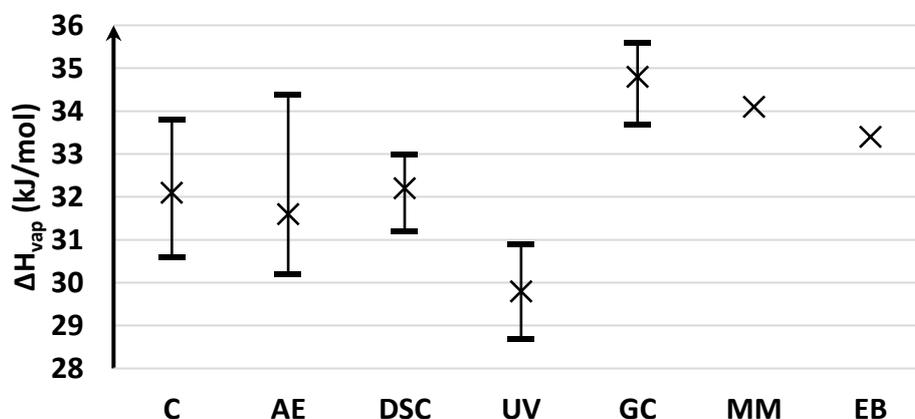


**Figura 2.** Representación gráfica del primer ensayo realizado sobre el benceno.

A partir de la pendiente de esta recta (-3.502,7) se puede calcular la entalpía de vaporización del benceno obtenida en este ensayo ([Ecuación 8](#)). Se debe cambiar de signo y multiplicar por la constante de los gases ( $R = 8,314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ) para obtener el valor de la entalpía en julios por mol (J/mol). En este primer ensayo, el valor obtenido fue de 29,1 kJ/mol.

Tras realizar los tres ensayos, el resultado para la entalpía de vaporización del benceno fue de **29,8 ± 1,1 kJ/mol**. Se trata de un valor acorde con los datos encontrados en la bibliografía,

como puede observarse en la [Figura 3](#), donde se compara este resultado con los recogidos en la bibliografía [30,31] por diferentes técnicas y grupos de investigación. Los resultados de este trabajo están representados en la [Figura 3](#) como “UV”.



**Figura 3.** Valores obtenidos para la entalpía de vaporización del benceno por diferentes técnicas: calorimetría (C), ecuación de Antoine (AE), calorimetría diferencial de barrido (DSC), este trabajo (UV), cromatografía de gases (GC), manómetro de mercurio (MM) y ebulómetro (EB).

La [Figura 3](#) también muestra que el valor obtenido en este trabajo es ligeramente inferior al recogido con otras técnicas, si bien se encuentra dentro del intervalo de valores propuesto por varias de ellas.

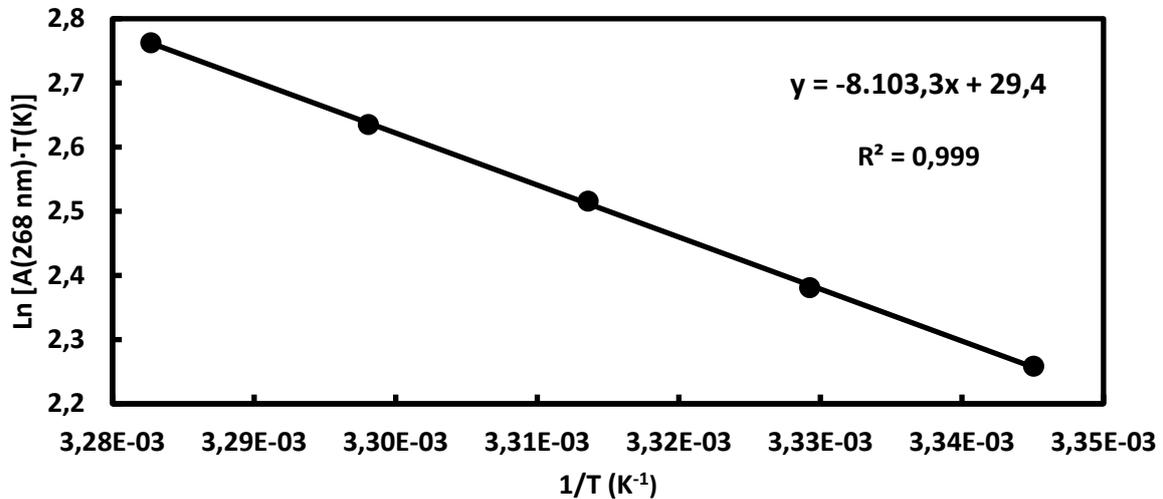
### Fenol.

La [Tabla 4](#) muestra los resultados obtenidos en el primer ensayo realizado sobre fenol. Los valores de absorbancia del fenol son del orden de 10 veces inferiores a los valores de absorbancia del benceno, si bien corresponden a diferentes rangos de temperatura. El valor de la absorbancia está directamente relacionado con la presión de vapor en la ecuación (6). Se trata de un resultado esperado teniendo en cuenta que la presión de vapor del fenol a 25°C es muy inferior a la del benceno a esta misma temperatura [24,32].

**Tabla 4.** Datos del primer ensayo realizado sobre el fenol.

A <sub>268 nm</sub>	T <sub>termostato</sub> (°C)	T <sub>cubeta</sub> (K)	Ln (A·T)	1/T·10 <sup>3</sup> (K <sup>-1</sup> )
0,032	26,5	298,95	2,26	3,345
0,036	28	300,37	2,38	3,329
0,041	29,5	301,79	2,52	3,314
0,046	31	303,21	2,64	3,298
0,052	32,5	304,63	2,76	3,283

Las mediciones del fenol se realizaron entre 298 y 304 K, temperaturas próximas a 25°C. Los valores de absorbancia obtenidos a 268 nm fueron de 0,032 a 0,052. Los datos del primer ensayo están representados en la [Figura 4](#).

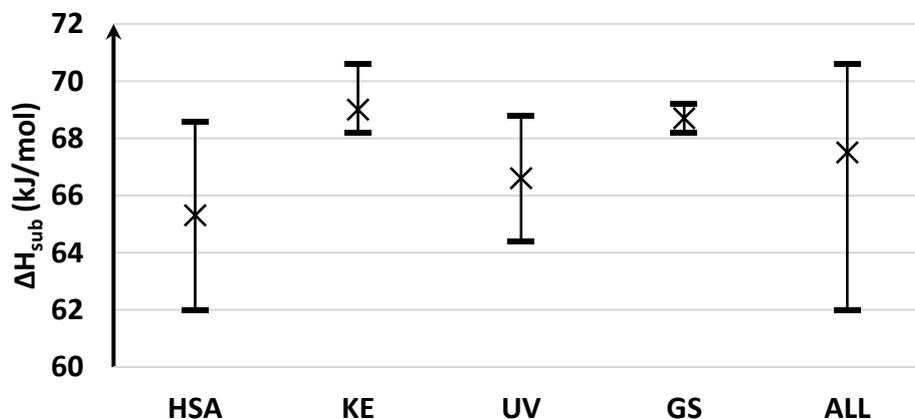


**Figura 4.** Representación gráfica del primer ensayo realizado sobre el fenol.

La recta obtenida en el primer ensayo presentó una excelente linealidad.

La pendiente (-8.103,3) permitió obtener un valor de la entalpía de sublimación para el primer ensayo del fenol de 67,4 kJ/mol.

Tras realizar los otros dos ensayos (con valores de  $R^2$  de 0,999 y 0,998), se determinó la entalpía de sublimación del fenol: **66,6 ± 2,0 kJ/mol**. En la [Figura 5](#) se observa el excelente acuerdo entre los valores encontrados en la bibliografía [30,31] y el resultado obtenido en este trabajo, representado como “UV”.



**Figura 5.** Valores para la entalpía de sublimación del fenol. Análisis en el espacio de cabezas (HSA), método de efusión de Knudsen (KE), este trabajo (UV), saturación de gas/transpiración (GS) y todos los valores de la bibliografía consultada (ALL).

La [Figura 5](#) también muestra la exactitud del valor obtenido en este trabajo. Este está más cercano a la media de todos los valores bibliográficos que el resto de valores obtenidos por las técnicas más utilizadas.

#### Evaluación del método.

La menor precisión del método para la determinación de la entalpía de vaporización del benceno se puede explicar por la presencia de condensaciones líquidas en las paredes de la cubeta. Se observó la presencia de gotas que aumentaban la absorbancia al formarse y la disminuían al resbalar por gravedad, originando inestabilidades en la lectura de la absorbancia. Además, la zona más fría de la cubeta, donde tendían a formarse las condensaciones, era aquella que no estaba cubierta por el circuito del termostato, es decir, precisamente la zona que debía ser atravesada por el haz de luz del espectrofotómetro. Se realizaron pruebas con otros líquidos como el carvacrol, un isómero del timol [33], que es líquido a temperatura ambiente, y mostraron el mismo problema: el gas condensaba en la zona menos termostatizada de la cubeta. En el caso del carvacrol, al tratarse de un líquido de mayor viscosidad, se formaba una película líquida que hacía aumentar la absorbancia.

Sin embargo, las medidas del fenol han mostrado la capacidad del método para la determinación de entalpías de sublimación.

A partir de los resultados obtenidos se concluyó la elevada eficacia del método para determinar entalpías de sublimación y la necesidad de modificarlo si se pretenden medir entalpías de vaporización.

### **3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.3.1 Timol**

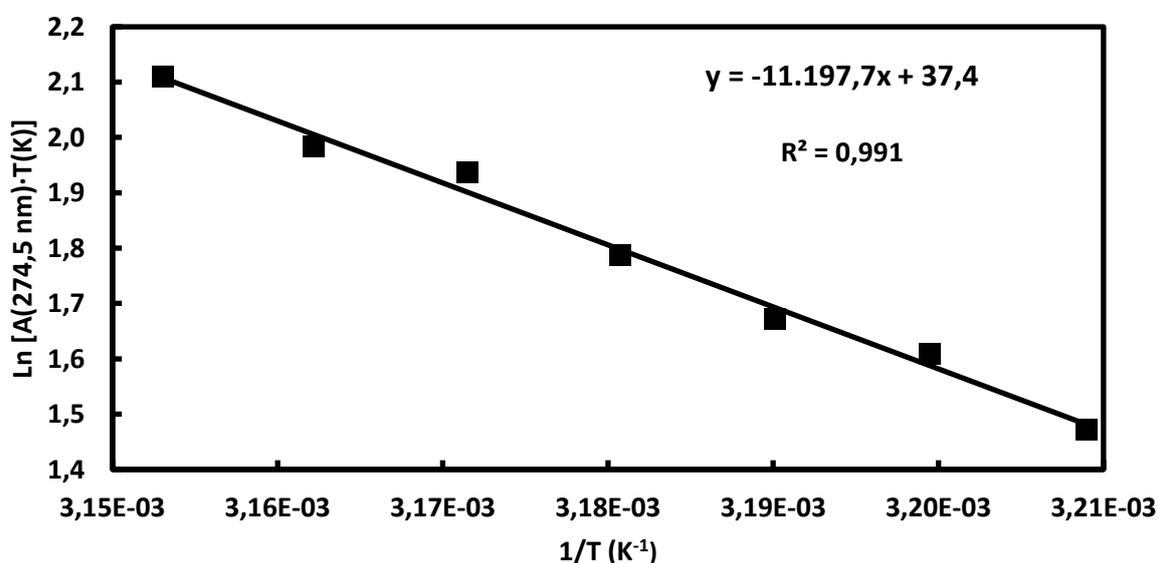
El timol es un derivado fenólico, con un grupo isopropilo en la posición 2 y un grupo metilo en la posición 5 del anillo aromático ([Tabla 1](#)). Los grupos alquilo de esta molécula tienden a desplazar hacia el visible el máximo de 268 nm del fenol, por lo que en los espectros el máximo de absorbancia se encontró entre 274,5 y 275 nm.

La [Tabla 5](#) muestra los resultados del primer ensayo realizado sobre el timol. Los valores de absorbancia obtenidos a 274,5 nm fueron de 0,014 a 0,026 en el rango de temperaturas elegido para las medidas. No fue posible mejorar los valores de absorbancia midiendo a temperaturas más altas debido a que serían cercanas al punto de fusión (49,6°C). Fue en estas medidas cuando se observó con claridad que medir a temperaturas próximas al punto de fusión generaba una pérdida de linealidad en la representación de la ecuación adaptada de Clausius-Clapeyron ([Ecuación 8](#)) y que los valores de la absorbancia se volvían inestables.

**Tabla 5.** Datos del primer ensayo realizado sobre el timol.

$A_{274,5 \text{ nm}}$	$T_{\text{termostato}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{cubeta}} (\text{K})$	$\text{Ln}(A \cdot T)$	$1/T \cdot 10^3 (\text{K}^{-1})$
0,014	40	311,63	1,47	3,209
0,016	41	312,55	1,61	3,200
0,017	42	313,47	1,67	3,190
0,019	43	314,39	1,79	3,181
0,022	44	315,31	1,94	3,171
0,023	45	316,23	1,98	3,162
0,026	46	317,16	2,11	3,153

La presión de vapor a 25°C del timol es menos de la mitad que la del fenol [24]. Bajas presiones de vapor suponen bajos valores de absorbancia, por lo que fue la primera vez que el método se utilizó con valores de absorbancia tan reducidos. A pesar de ello, se obtuvo un buen valor de  $R^2$  y todos los aumentos de temperatura fueron seguidos de un apreciable aumento en la absorbancia. Además, se observó que la absorbancia se mantenía estable una vez alcanzado un tiempo razonable. Esto permitió dar por válidas pequeñas variaciones en los valores de la absorbancia, y evitó tener que incrementar la diferencia entre temperaturas, que es un recurso de esta técnica ante variaciones de la absorbancia demasiado pequeñas. Los resultados del primer ensayo realizado sobre el timol están representados en la [Figura 6](#).



**Figura 6.** Representación gráfica del primer ensayo realizado sobre el timol.

La [Figura 7](#) muestra la variación de absorbancia del espectro del timol en la región ultravioleta cercana a medida que se aumentó la temperatura. Esta figura se elaboró con los datos

obtenidos en el primer ensayo, realizando un espectro a cada temperatura, y muestra un claro incremento en la absorbancia y, por lo tanto, en la concentración de timol en la fase gaseosa. Resulta de utilidad para comprobar, por ejemplo, que los aumentos en la absorbancia, aunque fueran pequeños, eran significativos en lugar de meras oscilaciones del espectrofotómetro en la longitud de onda específica a la que se estaba midiendo.

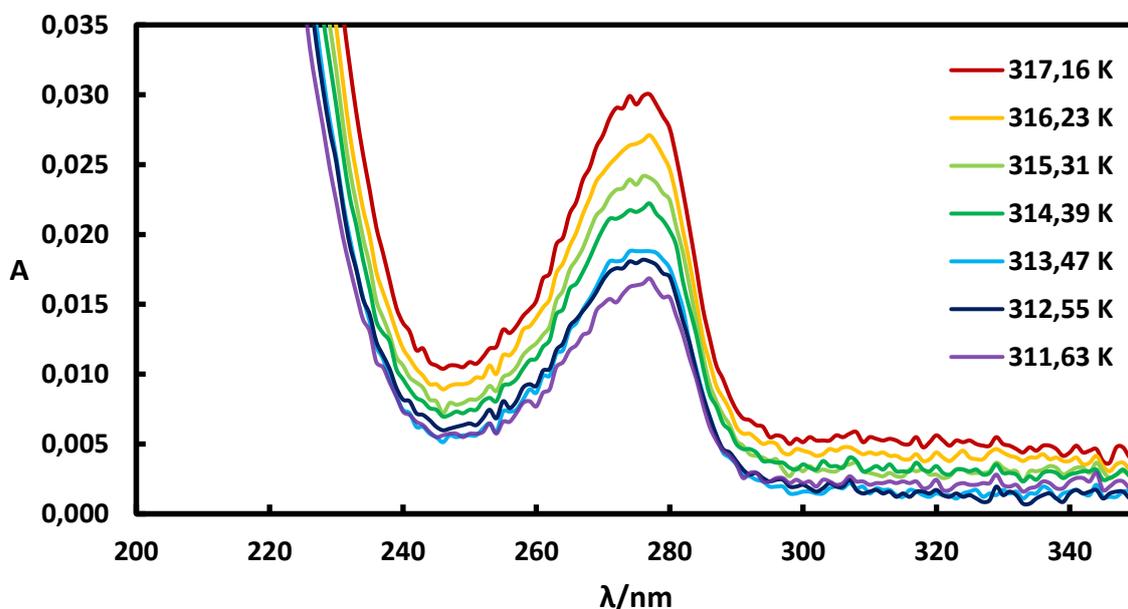


Figura 7. Espectros del timol relativos al primer ensayo.

Después de realizar tres ensayos se determinó la entalpía de sublimación del timol:  $95,5 \pm 2,2$  kJ/mol. En la bibliografía se han encontrado dos datos experimentales obtenidos mediante técnicas clásicas y que se encuentran en excelente acuerdo con el resultado:  $89,1 \pm 4,5$  kJ/mol (análisis en el espacio de cabezas) y  $91,2 \pm 4,1$  kJ/mol (efusión); además de un dato obtenido por gravimetría (69,0 kJ/mol) y otro calculado mediante la aplicación de la ecuación de Antoine (75,1 kJ/mol) a los resultados de presiones de vapor medidos por otros autores [30,31].

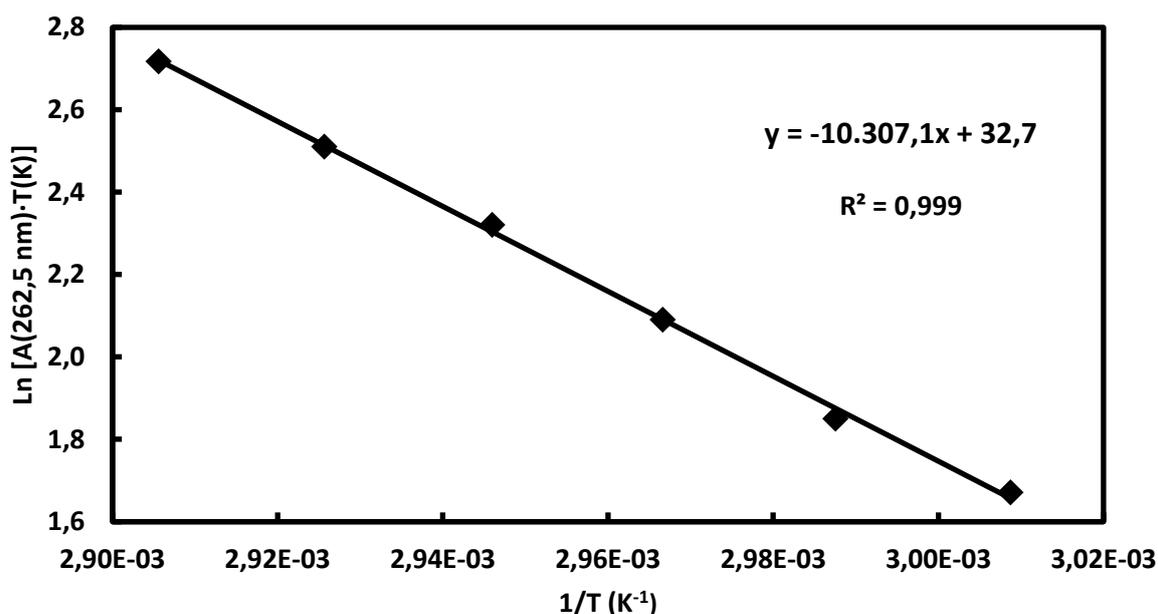
### 3.3.2. Vainillina

La entalpía de sublimación de la vainillina se midió en el rango de temperaturas 332-344 K. La absorbancia tardó pocos minutos en quedar estable tras cada cambio de temperatura y, aunque las variaciones de la absorbancia con la temperatura fueron pequeñas, la representación gráfica mostró una clara linealidad en los tres ensayos, siendo el peor coeficiente de determinación 0,993 y el mejor 0,999. Precisamente debido a que las variaciones de absorbancia fueron reducidas, las medidas se diferenciaron en 2,5°C.

**Tabla 6.** Datos del primer ensayo realizado sobre la vainillina.

$A_{262,5 \text{ nm}}$	$T_{\text{termostato}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{cubeta}} (\text{K})$	$\text{Ln}(A \cdot T)$	$1/T \cdot 10^3 (\text{K}^{-1})$
0,016	62,5	332,36	1,67	3,009
0,019	65,0	334,72	1,85	2,988
0,024	67,5	337,08	2,09	2,967
0,030	70,0	339,44	2,32	2,946
0,036	72,5	341,80	2,51	2,926
0,044	75,0	344,16	2,72	2,906

En la [Tabla 6](#) se muestran los resultados obtenidos en el primer ensayo realizado sobre la vainillina y se representan en la [Figura 8](#). Se puede apreciar que el hecho de que la absorbancia más alta no llegara a 0,045 no generó una mala linealidad, ya que para este ensayo el  $R^2$  fue de 0,999. Además, como puede observarse en la [Tabla 1](#), la presión de vapor de la vainillina a 25°C es dos órdenes de magnitud inferior a la del timol [24,26].



**Figura 8.** Representación gráfica del primer ensayo realizado sobre la vainillina.

La [Figura 9](#) recoge los espectros de la vainillina obtenidos a distintas temperaturas en el primer estudio. Se puede observar que las longitudes de onda elegidas para medir la absorbancia en los ensayos son adecuadas y coinciden con el máximo: 262,5 nm. También se puede observar el aumento que experimenta la absorbancia con la temperatura, confirmando que las variaciones en la absorbancia se deben a una única molécula y que el fundamento teórico explicado anteriormente se cumple en la práctica.

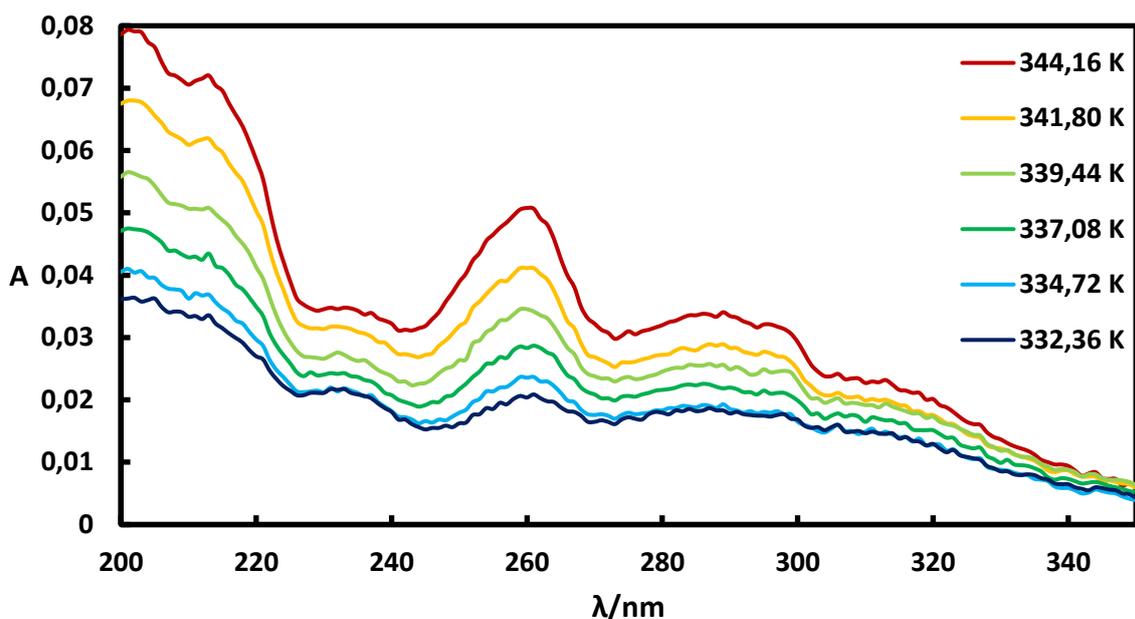


Figura 9. Espectros de la vainillina relativos al primer ensayo.

Se realizaron tres ensayos, determinándose una entalpía de sublimación para la vainillina de  $86,4 \pm 2,0$  kJ/mol. La única referencia encontrada en la bibliografía le atribuye un valor de 88,7 kJ/mol [30,31], en buen acuerdo con el resultado obtenido en este trabajo.

### 3.3.3 Ácido trans-cinámico

La presión de vapor del ácido trans-cinámico a 25°C es la más baja de todas las moléculas estudiadas en este trabajo [27], por lo que fue necesario medir a 347-362 K, temperaturas a las que los valores de absorbancia permanecían estables y merecían ser considerados como fiables. En la Tabla 7 pueden observarse los datos recogidos en el primer estudio.

Tabla 7. Datos del primer ensayo realizado sobre el ácido trans-cinámico.

$A_{270,5 \text{ nm}}$	$T_{\text{termostato}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{cubeta}} (\text{K})$	$\text{Ln}(A \cdot T)$	$1/T \cdot 10^3 (\text{K}^{-1})$
0,022	80,0	347,81	2,03	2,875
0,025	82,5	350,17	2,17	2,856
0,026	85,0	352,53	2,22	2,837
0,030	87,5	354,89	2,37	2,818
0,034	90,0	357,25	2,50	2,799
0,038	92,5	359,61	2,61	2,781
0,042	95,0	361,97	2,72	2,763

La representación de la ecuación adaptada de Clausius-Clapeyron para esos datos (Tabla 7) se puede observar en la Figura 10. Se obtuvo una buena linealidad en todos los ensayos, con valores de  $R^2$  comprendidos entre 0,992-0,998.

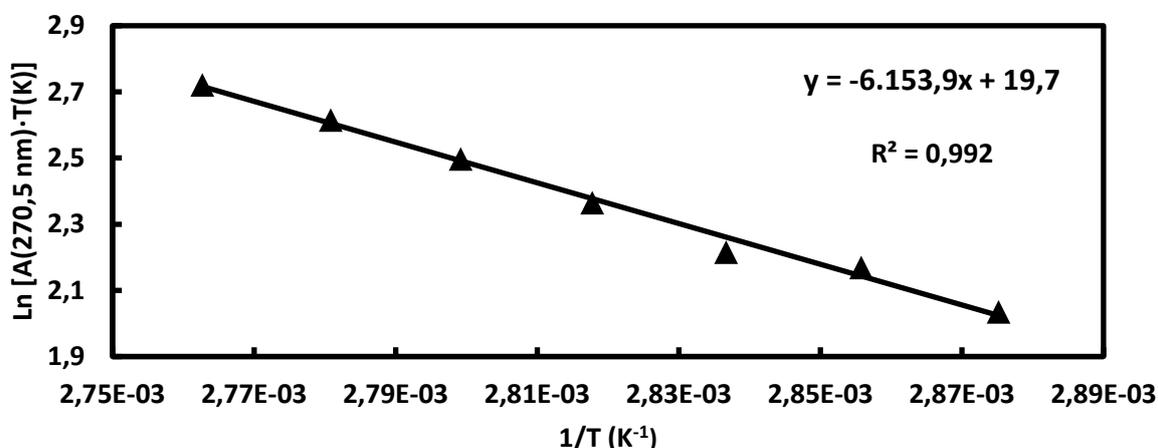


Figura 10. Representación gráfica del primer ensayo realizado sobre el ácido trans-cinámico.

Los espectros del ácido trans-cinámico (Figura 11) fueron contrastados con los recogidos en la bibliografía [31]. Muestran un máximo, con cierta forma de meseta, alrededor de los 265 nm y un mínimo en 227-230 nm, en perfecto acuerdo con los espectros registrados. En los tres ensayos de este trabajo los máximos homólogos estuvieron en la región de 266,5-270,5 nm. Las mínimas diferencias entre los espectros consultados y los registrados en este trabajo se atribuyen a que en este trabajo se mide directamente el ácido trans-cinámico en fase gaseosa, mientras que en la bibliografía se recogen los espectros de sus disoluciones en disolventes orgánicos.

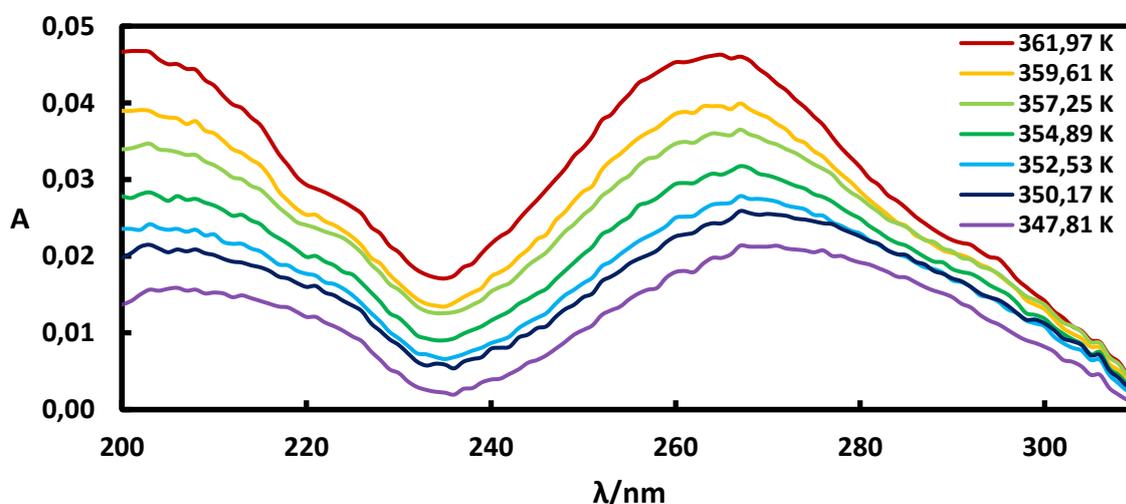


Figura 11. Espectros del ácido trans-cinámico relativos al primer ensayo.

La entalpía de sublimación del ácido trans-cinámico se determinó en **51,7 ± 1,3 kJ/mol**. Este resultado discrepa de la única referencia encontrada, que le atribuye un valor de 107,1 ± 0,8 kJ/mol en base a una técnica de efusión [30,31].

### 3.3.4 Discusión

Los resultados obtenidos en este trabajo para las entalpías de sublimación del timol y de la vainillina se encuentran en excelente acuerdo con lo recogido en la bibliografía. Teniendo en cuenta también los resultados del fenol, se pueden descartar errores de tipo sistemático en el método y procedimiento utilizados. En comparación con lo recogido en la bibliografía, para el timol existe una ligera sobrevaloración y para la vainillina una infravaloración mínima, mientras que para el fenol la coincidencia es máxima. Además, en el caso del timol, se ha obtenido menor dispersión en la determinación que las referencias en las que se habían utilizado técnicas clásicas.

En el caso del ácido trans-cinámico existe una notable discrepancia con la única referencia bibliográfica, realizada mediante la técnica de la efusión. Los primeros resultados obtenidos ya fueron discrepantes e hicieron dudar de la pureza del compuesto utilizado. Se procedió a su purificación por sublimación con la intención de eliminar impurezas y la posible humedad que pudiera contener. Se realizó un espectro de resonancia magnética nuclear (NMR) de la muestra sublimada y se midió su punto de fusión, confirmándose que la muestra era de una pureza muy elevada y el agua no estaba presente. Con este compuesto también se intentaron determinaciones a temperaturas superiores a los 100°C, con idea de obtener absorbancias más altas. Para ello se cambió el agua de termostatación por un aceite de silicona que soporta altas temperaturas. La termostatación obtenida de esta manera fue muy deficiente, debido a que la elevada viscosidad del aceite impide que fluya adecuadamente por la región del portacubetas del espectrofotómetro.

El resultado obtenido en este trabajo para el ácido trans-cinámico queda pendiente de nuevos estudios con otras técnicas experimentales, solo entonces se podrá confirmar o desechar, pero, sobre el valor aquí propuesto, considero que es una interesante e importante aportación.

Deben hacerse finalmente algunas consideraciones adicionales sobre la técnica experimental utilizada y las empleadas en los métodos más extendidos. Los métodos más específicos requieren realizar un buen control de la temperatura en sistemas experimentales de dimensiones mucho mayores que el de este trabajo, como así ocurre en los que utilizan la cromatografía de gases, la técnica de efusión o las balanzas termogravimétricas. En la técnica UV presentada, debe termostataarse un volumen pequeño: el que ocupa la cubeta de

dimensiones 1,25 x 1,25 x 4,60 cm<sup>3</sup>, lo que resulta más fácil de realizar y controlar. Por eso, la región termostatizada del portacubetas presenta una temperatura bastante homogénea, con elevada capacidad para ser termostatizada correctamente, siendo más sensible a los pequeños incrementos de temperatura que se seleccionan en el termostato. El único punto no termostatizado de esta región es aquel en el que el haz de luz del espectrofotómetro alcanza la cubeta.

Además, algunos de los métodos más extendidos para determinar entalpías de sublimación lo hacen de una manera indirecta. Así, el método de efusión de Knudsen, que goza de gran credibilidad, se basa en la detección del flujo molecular de gas sublimado que efusiona en unas condiciones precisas de vacío antes de condensarse en un dedo frío. La determinación por esta técnica requiere de factores de corrección (factor de probabilidad de Clausing). Un problema similar surge con las técnicas que utilizan la cromatografía de gases para cuantificar el vapor generado en el cambio de fase. En estos casos es necesaria una termostatización homogénea de la columna utilizada, y los resultados deben corregirse utilizando los índices de retención apropiados (índices de retención de Kovats), generalmente obtenidos a partir de n-alcenos. En cambio, en el método utilizado en este trabajo se mide directamente la presión de vapor a través de la absorbancia sin que se requiera realizar posteriores correcciones.

## 4 CONCLUSIONES

El método desarrollado en este trabajo para la determinación de entalpías de cambio de fase basado en la espectroscopía UV ha demostrado una elevada eficacia para determinar entalpías de sublimación. Se han determinado, en buen acuerdo con la bibliografía, las entalpías de sublimación del fenol, del timol y de la vainillina. Sin embargo, requiere ser modificado si se quieren determinar entalpías de vaporización.

Además, la espectroscopía UV presenta tres ventajas respecto a las principales técnicas indirectas clásicamente utilizadas para la determinación de entalpías de sublimación: una mayor facilidad para termostatar el sistema, la medición sobre la fase gaseosa en equilibrio con la fase condensada en un sistema cerrado y la utilización de una instrumentación habitual en los laboratorios debido a sus múltiples aplicaciones.

Finalmente, el valor de  $51,7 \pm 1,3$  kJ/mol obtenido en este trabajo para la entalpía de sublimación del ácido trans-cinámico en el rango de temperaturas 347-362 K discrepa de la única referencia encontrada, pero no se dispone de información suficiente para descartar la posibilidad de que el valor sea correcto.

## 5 BIBLIOGRAFÍA

- (1) Shiu WY, Ma KC. Temperature Dependence of Physical-Chemical Properties of Selected Chemicals of Environmental Interest. I. Mononuclear and Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. *J Phys Chem Ref Data*. 2000;29(1):41-130.
- (2) Verevkin S, Emel'yanenko V, Varfolomeev M, Solomonov B, Zherikova K, Melkhanova S. Vaporization enthalpies of a series of halogen-substituted fluorobenzenes. *Fluid Phase Equilib*. 2015;387:160-168.
- (3) Brittain HG. *Physical Characterization of Pharmaceutical Solids*. New York, NY: Marcel Dekker; 1995.
- (4) Vipagunta S, Brittain HG, Grant D. Crystalline solids. *Adv Drug Deliv Rev*. 2001;48(1):3-26.
- (5) Chen J, Sarma B, Evans J, Myerson A. Pharmaceutical Crystallization. *Cryst Growth Des*. 2011;11(4):887-895.
- (6) Hikal W, Weeks B. Spectroscopic determination of enthalpies of sublimation of organic materials in the vapor phase: Benzoic acid, ferrocene and naphthalene. *Chem Phys*. 2013;415:228-231.
- (7) Solomonov B, Varfolomeev M, Nagrimanov R, Novikov V, Zaitsau D, Verevkin S. Solution calorimetry as a complementary tool for the determination of enthalpies of vaporization and sublimation of low volatile compounds at 298.15 K. *Thermochim Acta*. 2014;589:164-173.
- (8) Abraham M, Acree W. Estimation of enthalpies of sublimation of organic, organometallic and inorganic compounds. *Fluid Phase Equilib*. 2020;515:112575.
- (9) Santos LMNBF, Lobo Ferreira AIMC, Šteifa V, Rodrigues ASMC, Rocha MAA, Torres MC, et al. Development of the Knudsen effusion methodology for vapour pressure measurements of low volatile liquids and solids based on a quartz crystal microbalance. *J Chem Thermodyn*. 2018;126:171-186.
- (10) Hoskovec M, Grygarová D, Cvačka J, Streinz L, Zima J, Verevkin SP, et al. Determining the vapour pressures of plant volatiles from gas chromatographic retention data. *J Chromatogr A*. 2005;1083:161-172.
- (11) Chen W, Haslam A, Macey A, Shah U, Brechtelsbauer C. Measuring Vapor Pressure with an Isotenoscope: A Hands-On Introduction to Thermodynamic Concepts. *J Chem Educ*. 2016;93(5):920-926.
- (12) Thomas MJK. *Ultraviolet and Visible Spectroscopy*. 2nd ed. New York, NY: Wiley; 1996.
- (13) Marchese A, Orhan I, Daglia M, Barbieri R, Di Lorenzo A, Nabavi S, et al. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food Chem*. 2016;210:402-414.

- (14) Kumar K, Choudhary R, Joshi B, Ramya V, Sahithi V, Veena P. Determination of antibacterial, antifungal activity and chemical composition of essential oil portion of unani formulation kulzam. *Int J Green Pharm.* 2011;5(1):28-33.
- (15) Queiroz G, Silva P, de Oliveira R, Sodr  G, Costa L. Drying temperature changes trichome integrity, chemical content and composition of the essential oil of pepper-rosmarin. *Cienc Rural.* 2018;48(11).
- (16) Bab o B. Extracci n de vainillina y  cido van lico empleando disolventes eut cticos profundos [tesis]. Madrid: Universidad Polit cnica de Madrid; 2019.
- (17) Fonseca AC, Lima M, Sousa A, Silvestre A, Coelho J, Serra A. Cinnamic acid derivatives as promising building blocks for advanced polymers: synthesis, properties and applications. *Polym Chem.* 2019;10(14):1696-1723.
- (18) Salum M, Arroyo Ma ez P, Luque F, Erra-Balsells R. Combined experimental and computational investigation of the absorption spectra of E- and Z-cinnamic acids in solution: The peculiarity of Z-cinnamics. 2015;148:128-135.
- (19) Wang R, Yang W, Fan Y, Dehean W, Li Y, Li H, et al. Design and synthesis of the novel oleanolic acid-cinnamic acid ester derivatives and glycyrrhetic acid-cinnamic acid ester derivatives with cytotoxic properties. *Bioorg Chem.* 2019;88:102951.
- (20) Xu C, Deng T, Fan M, Lv W, Liu J, Yu B. Synthesis and in vitro antitumor evaluation of dihydroartemisinin-cinnamic acid ester derivatives. 2016;107:192-203.
- (21) Peperidou A, Pontiki E, Hadjipavlou-Litina D, Voulgari E, Avgoustakis K. Multifunctional Cinnamic Acid Derivatives. *Molecules.* 2017;22(8):1247.
- (22) Perkin WH. XI.—On the formation of coumarin and of cinnamic and of other analogous acids from the aromatic aldehydes. *J Chem Soc.* 1877;31(0):288-427.
- (23) Haynes WM, Lide DR, Bruno TJ. *CRC Handbook of Chemistry and Physics.* 95th ed. Boca Raton: CRC Press; 2014.
- (24) Jones A. Sublimation Pressure Data for Organic Compounds. *J Chem Eng Data.* 1960;5(2):196-200.
- (25) O'Neil MJ. *The Merck Index – An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals.* Cambridge (UK): The Royal Society of Chemistry; 2013.
- (26) Yaws CL. *Handbook of Vapor Pressure.* Houston (TX): Gulf Publ Co; 1994.
- (27) EPA DSSTox [Internet]. Research Triangle Park, NC, United States: National Center for Computational Toxicology (NCCT); [consulta, 23/02/2021]. Disponible en: <https://www.epa.gov/chemical-research/distributed-structure-searchable-toxicity-dsstox-database>
- (28) Atkins PW, de Paula J, Keeler J. *Physical Chemistry.* 11th ed. Oxford: Oxford University Press; 2018.

- (29) Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. Principles of instrumental analysis. 4th ed. Philadelphia: Saunders College Publ.; 1998.
- (30) Acree W, Chickos J. Phase Transition Enthalpy Measurements of Organic and Organometallic Compounds. Sublimation, Vaporization and Fusion Enthalpies From 1880 to 2015. Part 1. C1 – C10. J Phys Chem Ref Data. 2016;45(3):033101.
- (31) NIST [Internet]. Gaithersburg: U.S. Department of Commerce; [consulta, 19/02/2021]. Disponible en: <https://www.nist.gov/>
- (32) Danner RP, Daubert TE. Physical and thermodynamic properties of pure chemicals. Washington: Taylor and Francis;1989.
- (33) Rajkumar P, Selvaraj S, Suganya R, Velmurugan D, Gunasekaran S, Kumaresan S. Vibrational and electronic spectral analysis of thymol an isomer of carvacrol isolated from *Trachyspermum ammi* seed: A combined experimental and theoretical study. Chem Dat Collect. 2018;15-16:10-31.